



ORJİNAL ARAŞTIRMA

ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI ELEKTROMANYETİK ALANLARIN LENFOSİTLERİN MEMBRAN POTANSİYELLERİNE ETKİSİ

Pınar Mega Tiber, Ayşe İnhan Garip

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biofizik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Amaç: Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların (ÇDF-EMA) canlılar üzerinde olumlu ve olumsuz etkileri daha önce gösterilmekle beraber etki mekanizması henüz bilinmemektedir. Ancak bu etkileşimin hücrenin membranında meydana gelen bir değişimle gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, düşük frekanslı elektromanyetik alan uygulanan mitojen ile indüklenmiş lenfositlerin membran potansiyellerinde meydana gelecek olası değişiklikleri floresans spektroskopisi yöntemi kullanılarak saptamak ve meydana gelen bu değişim ile hücre çoğalması arasındaki ilişkiyi belirlemektir.

Yöntem: Çalışmada sağlıklı insan kanından izole edilen T lenfositleri 72 saat RPMI-1640 içeren hücre kültür ortamında inkübe edilmişlerdir. Kontrol ve manyetik alan olmak üzere iki grup oluşturulmuştur. Hücreler 90 dakika manyetik alana maruz bırakıldıktan sonra membran potansiyel değişimini saptamak için di-4-ANNEPS probu kullanılarak floresans spektroskopik ölçümler yapılmıştır. Hücreler tripan mavisi ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda toma camında sayılmıştır.

Bulgular ve Sonuç: Düşük frekanslı elektromanyetik alana maruz bırakılan lenfositlerin membran potansiyellerinde hiperpolarizasyon ve hücre sayılarında azalma saptanmıştır. Bu bulgular ÇDF-EMA'nın membran potansiyelini ve hücre çoğalmasını etkilediğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: ÇDF-EMA, Membran Potansiyeli, Hiperpolarizasyon

İletişim Bilgileri:

*Dr. Pınar Mega Tiber
Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biofizik Anabilim Dalı
Haydarpaşa,, İstanbul, Türkiye
e-mail: pinarmet@yahoo.com*

Marmara Medical Journal 2008;21(3);238-246



THE EFFECT OF EXTREMELY LOW FREQUENCY MAGNETIC FIELDS ON MEMBRANE POTENTIAL OF LYMPHOCYTES

ABSTRACT

Objective: Although previous studies demonstrated that extremely low frequency magnetic fields (ELF-EMF) affected biologic systems, the mechanisms have not been elucidated yet. However, it is accepted that the interaction must involve the physicochemical properties of the plasma membrane. This study aimed to determine the probable change in membrane potential of mitogen induced lymphocytes exposed to ELF-EMF and correlate it with changes in proliferation of exposed cells.

Methods: Lymphocytes from healthy donors were grown in RPMI medium for 72 hours, before magnetic field (50 Hz, 5 mT) was applied for 90 minutes. Fluorescence spectroscopy with di-4-Anepps as a probe was used to determine change in membrane potential in the the magnetic field applied and control groups. Cell count was made by cytometer using trypan blue stain.

Results and Conclusion: Fluorescence spectroscopy studies revealed that magnetic field applied lymphocytes showed hyperpolarization with respect to control. A decrease in proliferation was observed in ELF-EMF exposed cells with respect to controls. These findings indicate that ELF-EMF affects membrane potential and cell proliferation.

Keywords: ELF-EMF, Membrane Potential, Hyperpolarization

GİRİŞ

Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar (ÇDF-EMA, 0-300 Hz) elektrik güç istasyonları, elektrik iletim sistemleri ve elektrik ile çalışan aletler gibi pek çok elektrikli sistemden yayılmaktadır¹. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerindeki etkileri son yıllarda üzerinde oldukça durulan bir konu olmuştur.

Son 30 yıldır yapılan araştırmalar, bu alanların biyolojik sistemleri etkilediğini göstermiştir²⁻⁴. Wertheimer ve arkadaşlarının⁵ öncü çalışması ile güç istasyonlarının ve yüksek gerilim hatları civarındaki yerleşimlerde yaşayan ve bu alanlara maruz kalan çocuklarda kanser sıklığının 2-3 kat artışının tespit edilmesi bu alandaki araştırmaların yoğunlaşmasına neden olmuş ve bu alanların olumsuz etkilerini gösteren birçok epidemiyolojik çalışma yapılmıştır⁶⁻⁸. Bu verilerin aksini gösteren bulgular da olmasına rağmen^{9,10} tüm verileri değerlendiren NIEHS [National Institute of Environmental Health Sciences] ve IARC, [International Agency for Research on Cancer] ÇDF-EMA'ları 2B sınıftan olası kanserojen etken olarak kabul etmiştir^{11,12}.

Buna rağmen tartışmaların devam etmesinin en önemli nedeni bu alanların canlı organizmalarla olan etkileşiminin hücre düzeyindeki mekanizmasının henüz belirlenmemiş olmasıdır¹³. Ancak bu etkileşimin frekans ve manyetik alan şiddetinde bir "pencere" etkisi gösterdiği, diğer bir deyişle bazı frekans ve manyetik alan şiddetlerinde bir etkileşimin olduğu diğer bazı frekans ve alan şiddetlerinde ise bu etkileşimin olmadığı veya aksi yönde bir etkilenimin olduğudur¹⁴. Araştırmacıların hemfikir olduğu diğer bir olgu da bu etkilenimin hücre zarında meydana gelen bir değişimden kaynaklanabileceğidir.

Bu öngörü ile biz bu çalışmamızda, düşük frekanslı elektromanyetik alanların kullanılan şiddet ve frekansta lenfositlerin membran potansiyelini etkileyip etkilemedikleri ve buna bağlı olarak hücre çoğalmasında meydana gelen değişiklikleri saptamayı hedefledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

İçinde 2 ml heparin (5U/ml, Nevparin, Mustafa Nevzat) bulunan 20 ml sağlıklı insan kanı 500xg'de 20 dk santrifuj edildi ve faz ayrılması sağlandı. Oluşan mononükleer



hücre halkası toplanarak başka bir tüpe aktarıldı. Bu hücreler daha sonra 500xg'de, oda ısısında izotonik Na Cl ile iki kez, RPMI-1640 (Sigma, USA) medyum ile bir kez yıkandı.

Hücreler tripan mavisini ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda toma camında sayıldı ve canlılıkları belirlendi. Mitojenin eklenmesinden sonra, bu hücreler hücre kültür kaplarına dağıtıldı. Mitojen olarak fitohemaglutinin (PHA, Sigma, USA) 2 µg/ml kullanıldı. Hücre kültür kaplarındaki hücreler 37 ° C'ta, %5 CO₂ içeren ortamda 72 saat inkübe edildi. Floresans çalışmalar için 72 saatten sonra, hücreler yüksek Na⁺ derişimli A çözeltisi ile yıkandıktan sonra tripan mavisini çözeltisi ile canlılıkları belirlendi.

Membran potansiyeli ölçümü için floresans spektroskopisi (Photon Technology International Spectrophotometer) kullanıldı. Floresans probu olarak; 5x10⁻⁷ M di-4-Anepss [1-(3-sulfonatopropyl)-4-[β-[2-(di-n-butylamino)-6-naphthyl] vinyl] pyridinium betaine] moleküler probu (Molecular Probes) kullanıldı. Bu floresans prob iki bant verir ve iki farklı durumun yanıtının belirlenmesi, bu bantların oranındaki değişimin ve frekans kaymasının saptanması ile sağlanır¹⁵. Hücreler prop ile 7 dakika inkübe edildikten sonra floresans ölçüm alındı.

Floresans spektroskopi ölçümünde başlama dalga boyu 350 nm, bitiş dalga boyu 550 nm, emisyon dalga boyu 610 nm olarak alındı. Membran potansiyeli kalibrasyon eğrisi elde etmek için değişik potasyum derişimlerinde ölçüm alındı. K⁺ geçirgenliği sağlanması için valinomisin kullanıldı ve Nernst denklemi kullanılarak membran potansiyeli hesaplandı.

$$V_m = -59. \log \frac{[K]_{iç}}{[K]_{dış}}$$

Floresans spektroskopisi ölçümü farklı derişimlerdeki çözelti için tekrarlandı. Bunlar yüksek Na⁺ çözeltisi ve yüksek K⁺ çözeltisi olarak tanımlandılar.

A çözeltisi (Yüksek derişimli Na⁺ çözeltisi): 140 mM NaCl, 2 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 10

mM Glikoz, 20 mM Hepes kullanıldı. Çözeltinin pH'sı 7,3 'e ayarlandı.

B çözeltisi (Yüksek derişimli K⁺ çözeltisi): 140 mM KCl, 2 mM NaCl, 1 mM CaCl₂, 10 mM Glikoz, 20 mM Hepes kullanıldı.

Bu solüsyonlar farklı oranlarda karıştırılarak (Tablo I) solüsyon pH'sı 7,3 'e ayarlandı¹⁶ ve bu ölçümler membran potansiyeli kalibrasyon eğrisi için kullanıldı.

Manyetik alan akım değiştirilerek 5mT olacak şekilde ayarlandı. Hem kontrol hem ÇDF-EMA uygulanan hücrelerin buldukları ortamın sıcaklığını sabitlemek için 37 ° C'ta bir su banyosu kullanılarak su sirkülasyonu sağlandı.

Floresans spektroskopisinde elde edilen bantlar Origin-5 programı kullanılarak analiz edildi.

Hücre sayım ve hesapları:

Hücreler elektromanyetik alan uygulama öncesi ve sonrası sayılmıştır. ÇDF-EMA uygulanmış hücrelerin kontrol grubuna göre oranı şu şekilde hesaplanmıştır:

ÇDF-EMA uygulama sonrası hücre sayısı

ÇDF-EMA Oranı: _____

ÇDF-EMA uygulama öncesi hücre sayısı

Kontrol grubu uygulama sonrası hücre sayısı

ÇDF-EMA Oranı: _____

Kontrol grubu uygulama öncesi hücre sayısı

Kontrol grubuna göre ÇDF-EMA'nın hücre çoğalmasına etkisi;

$$\frac{\text{ÇDF-EMA oranı}}{\text{Kontrol oranı}} \times 100 \text{ olarak hesaplanmıştır.}$$



Tablo I: Farklı Na⁺ ve K⁺ derişimleri ve Valinomisın eklenmesi ile Nernst denge denklemi ile hesaplanan potansiyel değerleri.

Solüsyon Derişimleri	+ Valinomisın ile bu Derişimlerdeki Potansiyel Değerleri (mV)
Yüksek Na ⁺ Derişimi : 5 ml A çöz.	-109,760
4 ml A çöz. + 1 ml B çöz.	- 40,714
3 ml A çöz.+ 2 ml B çöz.	- 23,834
2 ml A çöz.+ 3 ml B çöz.	- 13,745
1 ml A çöz. + 4 ml B çöz.	- 6,526
Yüksek K ⁺ Derişimi : 5 ml B çöz.	- 0,899

Tablo II: ÇDF-EMA uygulanmış ve uygulanmamış hücrelerin çoğalmalarının karşılaştırılması

Deney	ÇDF-EMA oranı	Kontrol oranı	(ÇDF-EMA oranı / Kontrol oranı) x 100
1	0,25	0.9	28
2	0.34	0.92	37
3	0.27	0.93	29
4	0.38	0.95	40
5	0.31	0.92	34

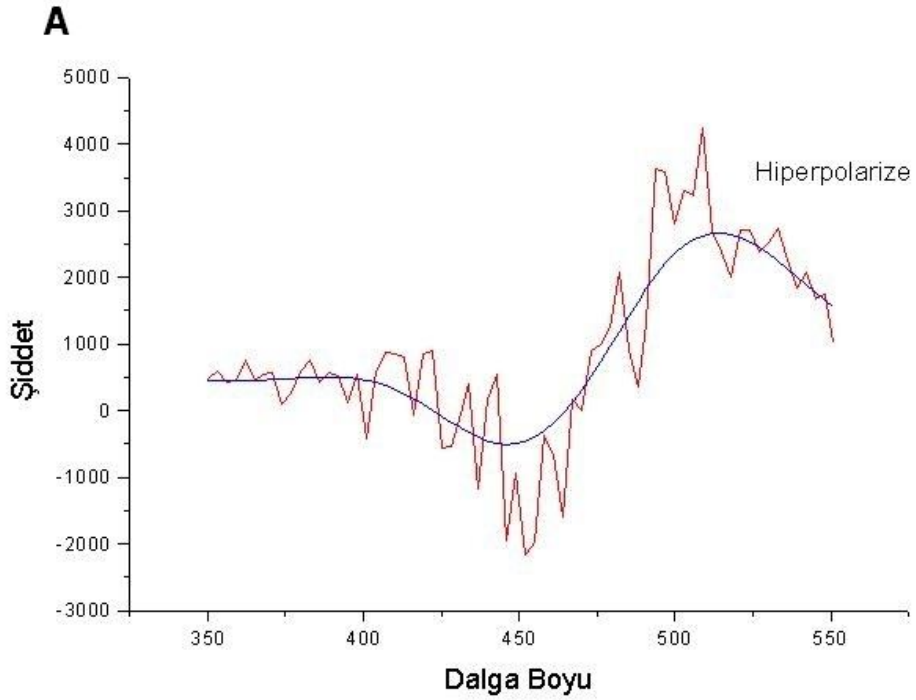
BULGULAR

Yüksek Na⁺ ve yüksek K⁺ derişimli çözeltiler kullanılarak valinomisın varlığında ve yokluğunda floresans ölçümler yapıldı ve depolarizasyon ve hiperpolarizasyon spektrumları elde edildi (Şekil 1). Hiperpolarizasyonda, kırmızı kayma olarak tanımlanan uzun dalga boyuna doğru kayma görüldü. Depolarizasyonda ise, mavi kayma olarak tanımlanan kısa dalga boyuna doğru kayma görüldü. Kalibrasyon eğrisi elde etmek için valinomisinli ve valinomisinsiz çözeltilerin fark bantları çizildi ve görülen en yüksek şiddet farkını veren iki dalga boyu (440 nm ve 506 nm) belirlendi. Kalibrasyonda

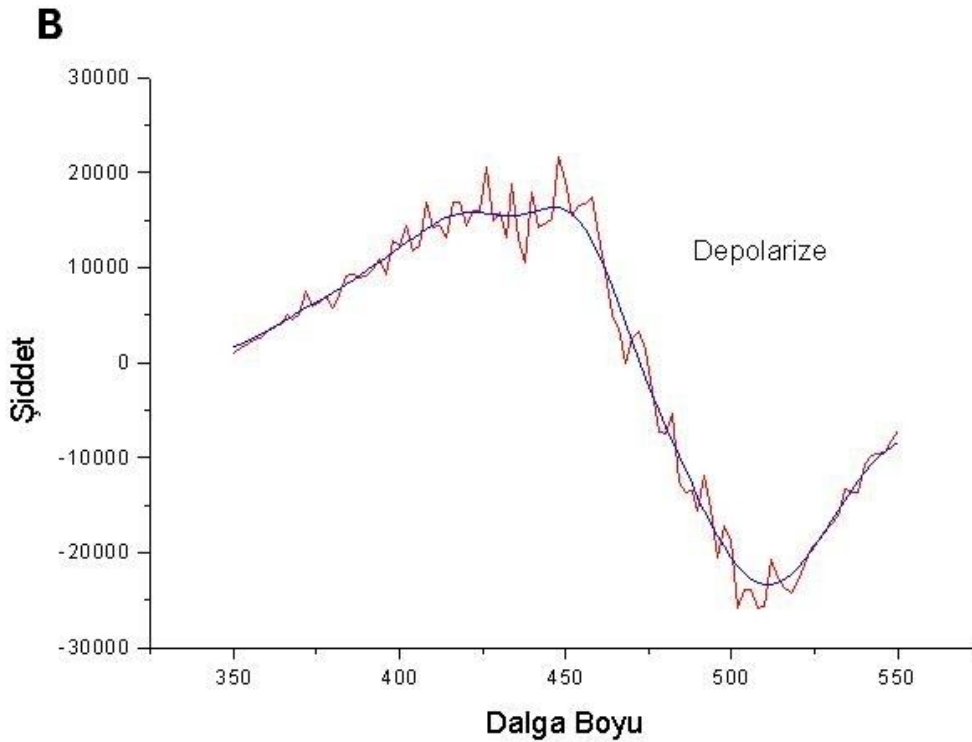
kullanılan her çözelti için bu dalga boyu oranları F_{440} / F_{506} saptandı. Nernst denklemi ile hesaplanan potansiyel değerlere karşı çizildi (Şekil 2).

Hücreler ÇDF-EMA'ya maruz bırakıldıktan sonra manyetik alan uygulanmış ve kontrol gruplarının floresans spektroskopik ölçümleri yapıldı (Şekil 3). Manyetik alana maruz bırakılan grubun spektrumuna uzun dalga boyuna kayma görüldü.

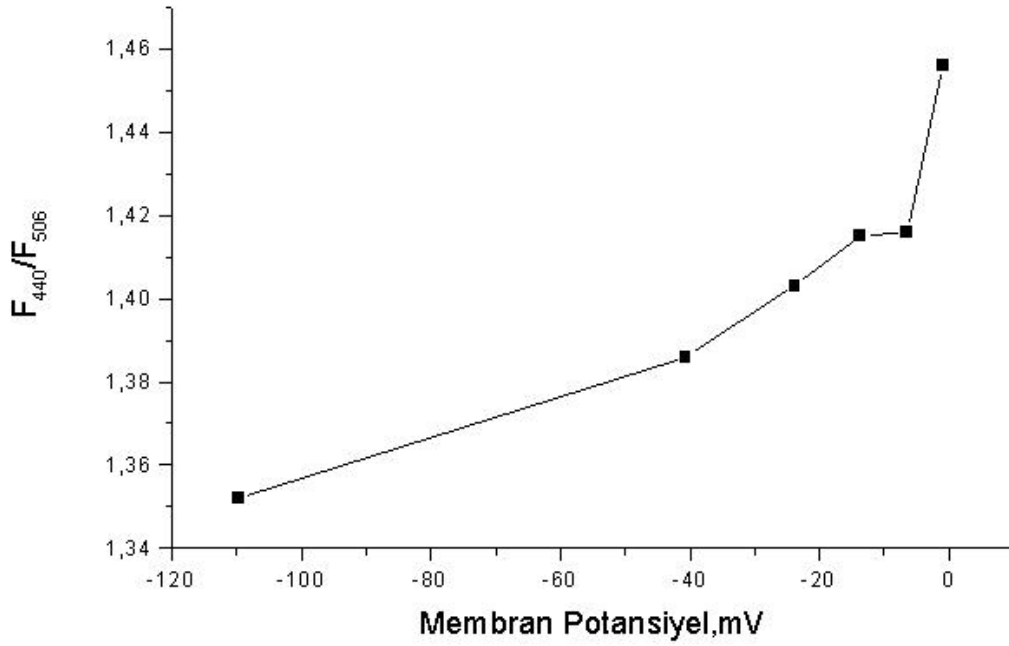
Manyetik alan grubunun Şekil 3'den elde edilen 440 nm ve 506 nm'daki floresans şiddet değerleri:440 nm'de 1940590 ve 506 nm'de 1430680 olarak belirlendi. Manyetik alan membran potansiyelinin belirlenmesi için



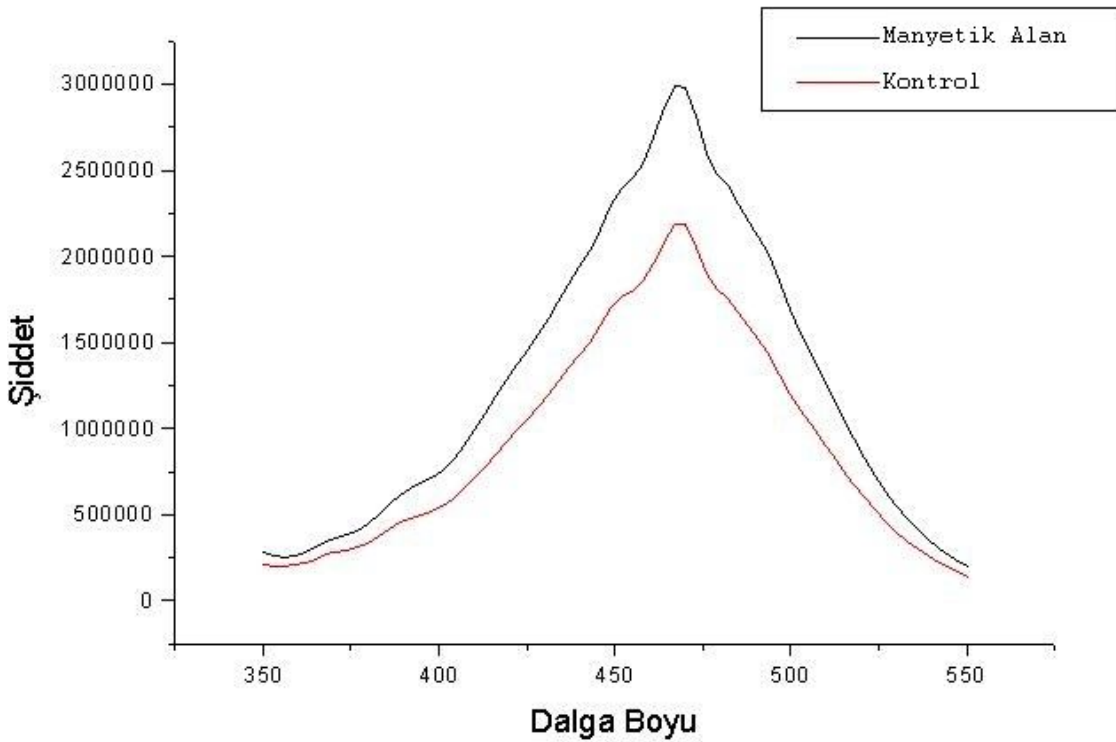
Şekil 1: A)Yüksek Na⁺ ortamında hiperpolarizasyon spektrumu. B)Yüksek K⁺ ortamında depolarizasyon spektrumu.



Şekil 2 : Membran potansiyel kalibrasyon eğrisi . Membran potansiyel kalibrasyon eğrisi, valinomisiz ve valinomisizli çözeltilerin fark bantlarında belirlenen en yüksek şiddet farkını veren iki dalga boyu belirlenerek (440 nm ve 506 nm) ve bu dalga boylarının oranları F440 / F506 alınarak, bu değerlere karşılık gelen K⁺ için Nernst Denge Denklemi ile hesaplanan potansiyel değerlere karşı çizildi.



Şekil 3 : Manyetik alan- kontrol grubu spektrumları. Membran potansiyellerinin kalibrasyon eğrisinden elde edilebilmesi için 440 nm ve 506 nm şiddet değerleri bu spektrumdan belirlenmiştir



Şekil 4: Manyetik alan – kontrol grafiğinin normalizasyondan sonra elde edilen fark spektrumu.



440 nm ve 506 nm şiddet değerlerinin oranı: 1,356 olarak hesaplandı.

Kontrol grubunun Şekil 3'den elde edilen 440 nm ve 506 nm'deki floresans şiddet değerleri: 440 nm'de 1428300 ve 506 nm'de 1023550 olarak belirlendi. Kontrol grubunun membran potansiyelinin belirlenmesi için 440 nm ve 506 nm şiddet değerlerinin oranı: 1,395 olarak hesaplandı.

Manyetik alan grubu için karşılık gelen membran potansiyeli değeri kalibrasyon eğrisinden -101,008 mV olarak belirlendi ve bu hücrelerin hiperpolarize olduklarını gösterdi. Kontrol grubu için karşılık gelen membran potansiyel değeri kalibrasyon eğrisinden -31,942 olarak belirlendi. 5mT, 50Hz elektromanyetik alanın lenfositlerde hiperpolarizasyona yol açtığı belirlendi (Şekil 4).

Hücre sayımları tripan mavisi (% 0.4) ile ışık mikroskopisi kullanılarak yapıldı. Hücrelere elektromanyetik alan, kültürün üçüncü günü uygulandı. Hücreler elektromanyetik alan uygulama öncesi ve sonrası sayıldı. Deneyler beş kez tekrarlanarak, ÇDF-EMA uygulanmış hücrelerin kontrol grubuna göre oranı hesaplandı. Hücre sayımlarının değerlendirilmesi sonucu ÇDF-EMA uygulanan hücrelerin çoğalmasında kontrol grubuna göre %34 civarında azalma belirlendi (Tablo II).

Hücre sayımlarının değerlendirilmesi sonucu ÇDF-EMA uygulanan hücrelerin çoğalmasında kontrol grubuna göre %34 civarında azalma belirlenmiştir.

TARTIŞMA

ÇDF-EMA'nın biyolojik sistemleri etkiledikleri bilimsel çevrelerde kabul edilmiş ve bu alandaki çalışmalar gerek çevresel kirlilik açısından gerekse de tıpta sağaltıcı olarak kullanılabilirliği açısından yoğun olarak devam etmektedir. Ancak bu elektromanyetik alanların hücreyi ne şekilde etkileyerek fizyolojik değişimlere yol açtıkları henüz anlaşılabilir değildir. Buna rağmen bu konuda kabul gören yaklaşım düşük frekanslı

elektromanyetik alanların hücre ile etkileşimlerinde hedef bölgenin plazma membranı olduğudur. Bunun nedeni hücre membranının yüksek dielektrik yapısının elektrik alanın hücre içine girmesini engellemesidir. Bundan dolayı ÇDF-EMA'nın hücre içinde yarattığı etkinin hücre membranında başlayan değişimlerden kaynaklanabileceği ve bu değişimlerin plazma membranındaki zıt iyon tabakasında, iyon kanal geçirgenliğinde, glikoproteinlerde ve ligand-reseptör etkileşimlerinde değişimler gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

Bu yaklaşımları göz önüne alarak ÇDF-EMA'nın membran potansiyelindeki meydana getirebileceği olası değişimi saptamayı ve bunu hücre çoğalması ile ilişkilendirmeyi amaçladık.

Bulgularımız 5mT, 50Hz elektromanyetik alanın lenfositlerde hiperpolarizasyona yol açtığını gösterdi (Şekil 4). Bu bulgumuz Nuccitelli ve arkadaşlarının yaptıkları ve farklı şiddetlerdeki manyetik alanların U937 monosit hücrelerinde hiperpolarizasyona yol açtığını gösteren bulguları ile örtüşmektedir¹⁷. Ancak belirtilmesi gereken bir husus aynı çalışmada farklı bir hücre soyunda depolarizasyon görülmesidir. Tonini ve arkadaşları da farklılaşmaya uyarılmış nöroblastoma hücrelerinde farklılaşma uyarımı sonucu meydana gelen hiperpolarizasyonun ÇDF-EMA etkisi ile tersine döndüğünü göstermişlerdir. Tüm bu sonuçlar düşük frekanslı elektromanyetik alanların membran potansiyelinde bir değişime yol açabilecekleri ve bu değişimin hücre soyuna ve durumuna özgü olarak hiperpolarizasyon veya depolarizasyon olabileceğini göstermektedir.

Yaptığımız çalışma elektromanyetik alan uygulamasının hücre sayısında düşüşe yol açtığını göstermiştir. Çok sayıda çalışmada, lenfositlerin *in vitro* ortamda düşük frekanslı elektromanyetik alana maruz bırakılmasıyla, manyetik alanın T-lenfosit çoğalmasını etkilediği gösterilmiştir¹⁸. Bazı çalışmalar lenfosit çoğalmasında artış, bazı çalışmalarda ise azalma gözlenmiştir. Bunun olası bir nedeni düşük frekanslı elektromanyetik



alanların "pencere" etkisidir. Birçok araştırmacının hemfikir olduğu "pencere" etkisi sadece bazı frekans ve manyetik alan şiddet değerlerinde bir etkileşimin olması, diğer bazı değerlerde bu etkileşimin daha az veya ters bir yönde görülmesi durumudur. Alan şiddeti, frekansı, uygulama süresi, etkin aralıkları henüz belirlenemeyen "pencere" etkisini belirler¹⁴.

Çalışmamızda gözlediğimiz lenfosit proliferasyonunda azalma, membran potansiyeli değişiminin yol açtığı Ca^{+2} akısındaki değişimden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Uyarılamayan hücrelerde, hiperpolarizasyonun Ca^{+2} girişini arttırdığı gözlemlenmiştir¹⁹. Buna ek olarak ÇDF-EMA'nın Ca^{+2} akısını değiştirdiği bilinmektedir.²⁰⁻²². Düşüncemiz ÇDF-EMA uygulaması ile meydana gelen hiperpolarizasyonun sonucu veya doğrudan veya her iki etki sonucu ile Ca^{+2} girişinin arttığı ve hücre içi Ca^{+2} artışının apoptoza yol açarak hücre sayısında düşüşe neden olduğu yönündedir. Bilindiği gibi hücre içi kalsiyum artışı apoptoz sürecinin kilit noktasıdır ve mitokondride meydana gelen apoptozu başlatan süreçler kalsiyum derişimlerine bağlıdır²³.

Diğer çalışmalarda elde edilen bulgularla uyumlu olarak, çalışmamızda 5mT, 50Hz çok düşük frekanslı elektromanyetik alan uygulanan hücrelerde membran potansiyelinde değişiklik meydana gelebileceği çalışmamızda da lenfositlerin membran potansiyellerinde kontrol grubuna göre hiperpolarizasyona yol açığının belirlenmesi ile gösterilmiştir. ÇDF-EMA'nın bu alan parametrelerinde lenfosit çoğalmasında azalmaya yol açtığı görülmüştür. Lenfosit hücrelerinde manyetik alan etkisiyle meydana gelen hiperpolarizasyon durumunun bu hücrelerin çoğalmasında düşüşe yol açacak bazı sinyal ileti mekanizmalarını uyardığı düşünülmektedir. Çalışmalarımızın başta Ca^{+2} akısındaki değişim olmak üzere hangi sinyal ileti sistemlerinin etkilendiğini saptamaya yönelik olarak sürdürülmesi amaçlanmaktadır.

REFERANSLAR

1. Bennet JW.R.. Health and Low Frequency Electromagnetic Fields., 1994; 32, Edwards Brother Inc.ISBN0-300-05763-6, Michigan, USA.

2. Frey AH. Electromagnetic field interactions with biological systems. FASEB J. 1992; 7: 272-281.
3. Hamnerius Y..Overwiev of epidemiological findings, physiological effects and proposed mechanisms of biological interactions with low level electric and magnetic fields. In: Norden B, Hamel C, eds. Interaction Mechanisms of Low Level Electromagnetic Fields. Oxford Science Publications, 1992; 3-14, Newyork.
4. Lacy-Hulbert A.,Metcalfe JC.,Hesketh R. Biological responses to electromagnetic fields. FASEB J,1998;12: 395-420.
5. Wertheimer,N.,Leeper,E., Electrical wiring configurations and childhood cancer, Am.J.Epidemiol. 1979;109: 273-284.
6. Tynes T, Andersen A, Langmark F. Incidence of cancer in Norwegian workers potentially exposed to electromagnetic fields. Am.J.Epidemiol. 1992;136: 81-88.
7. Thériault S, Goldberg M, Miller AB, et al. Cancer risks associated with occupational exposure to magnetic fields among electric utility workers in Ontario and Quebec,Canada and France -1970-1989. Am.J.Epidemiol. 1994; 139: 550-572.
8. Moulder, J.E., Foster, K.R.: Is there a link between exposure to power frequency electric fields and cancer?. IEE Eng. Med. Bio. Mag., 1999; 18: 109-116.
9. Tynes T, Haldorsen T. Electromagnetic fields and cancer in children residing near Norwegian high voltage power lines.Am.J.Epidemiol. 1997;145: 219-226.
10. Savitz DA, Loomis DP. Magnetic field exposure in relation to leukemia and breast cancer mortality among electrical utility workers.Am.J.Epidemiol.1995;141:123-134.
11. National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS). Working Group Report: Assesment of Health Effects to Power-line frequency Electric and Magnetic fields. Portier,CJ, Wolfe,M.S, eds. National Institute of Health, NIH Publication 1998; 98-3981. NIEHS, Research Triangle Park.NC.
12. Non-Ionizing Radiation, Part 1. Static and Extremely Low-Frequency (ELF) Electric and Magnetic Fields. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2002;80: 1-395.
13. Berdiushkov, J.N.,Goroshinskaia, I.V.: Structural – functional changes in lymphocyte ans erythrocyte membranes after exposure to alternating magnetic field. Vopr Med Khim. 2000; 46: 72-80.
14. Adey W.R. Tissue interactions with non-ionizing electromagnetic fields. Physiol. Rev 1981; 61: 435-514.
15. Montana, V., Farkas, D.L., Loew, L.M.: Dual – Wavelength ratiometric fluorescence measurements of membrane potential. Biochemistry 1989; 28: 4536-4539.
16. Rader, R.K., Kahn, L.E., Anderson, G.D., Martin, C.L., Chinn, K.S., Gregory, S.A.:T cell activation is regulated by voltage dependent and calcium – activated potassium channels. J Immunol., 1996; 156: 1425-1430.
17. Nuccitelli, S., Cerella, C., Cordisco, S.,et al.: Hyperpolarization of plasma membrane of tumor cells



sensitive to antiapoptotic effects of magnetic fields Ann. N.Y. Acad. Sci., 2006; 1090: 217–225.

18. Cadossi, R., Bersani, F., Cossarizza, A., et al: Lymphocytes and low frequency electromagnetic fields. FASEB J 1992; 6: 2667-2674.
19. Clapham D E. Calcium Signaling, Cell 1995; 80: 259-268.
20. Walleczek, J.: Electromagnetic field effects on cells of the immune system: The role of calcium signaling. FASEB J 1992; 6: 3177-3185.
21. Frey,A.H.: Electromagnetic Field Interactions. Biophysical aspects of electromagnetic field effects on mammalian cells, 1995; Ch.3: 32-33, Maryland,USA.
22. Balcavage, W.X., Alvager, T., Swez, J., et al.: A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological system, Biochem Biophys Res Commun., 1996; 222: 374-378.
23. Breckenridge DG, Stojanovic M, Marcellus RC, Shore.GC.: Caspase cleavage product of BAP31 induces mitochondrial fission through endoplasmic reticulum calcium signals, enhancing cytochrome c release to the cytosol. J. Cell Biol. 2003; 160: 1115–1127.